Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. W. Dick

Methodisches zur Retraktionszeitbestimmung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
CHRISTA RIECKERT
aus Neudamm

1965

8376

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. W. Dick

Methodisches zur Retraktionszeitbestimmung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
CHRISTA RIECKERT
aus Neudamm

1965

Dekan: Professor Dr.W. S c h u l t e
1. Berichterstatter: Prof.Dr.P. M a t i s
2. Berichterstatter: Prof.Dr.W. D i c k

Druck: Repro-Anstalt W. Betz Tübingen

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung und Problemstellung 1

II. Eigene Untersuchungen 8

1. Versuchsanordnung 8

2. Ergebnisse 11

3. Diskussion der Ergebnisse 26

III. Zusammenfassung 33

IV. Literatur 35

I. Einleitung und Problemstellung

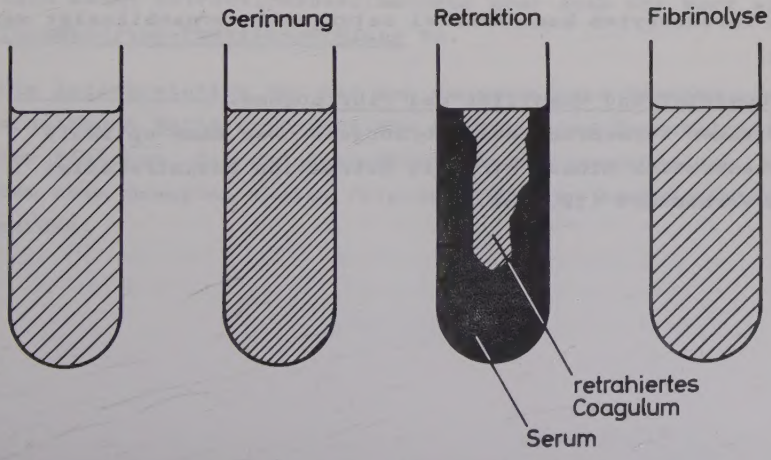
Lässt man Blut ohne Zusatz aus der Vene in ein Reagenzglas fliessen, so kommt es alsbald zur Verfestigung, Gerinnung des Blutes. Nach einiger Zeit beobachtet man ein mehr oder weniger ausgeprägtes Absetzen des Gerinnsels von der Glaswand.

Die Volumenverkleinerung des Gerinnsels (Blutkuchens) ist nur auf Kosten eines - bis dahin - Gerinnselbestandteiles möglich: Es kommt zur Auspressung einer Flüssigkeit, die alle Bestandteile des Blutes enthält mit Ausnahme

1) der corpusculären Elemente (im wesentlichen Erythrocyten), die aus dem sein Volumen und damit auch seine Maschen ver. kleinernden Fibringerüst nicht (mehr) ausgepresst werden können, und

2) derjenigen Substanz, die ursprünglich im Blutplasma vorhanden, bei der Gerinnung zum Aufbau des sich retrahierenden Gerinnselgerüsts verbraucht wird, des Fibrin(ogen)s.

Diese Flüssigkeit bezeichnet man als Serum, den Vorgang der Volumensverkleinerung des Gerinnsels als Retraktion des Gerinnsels (Abb. 1).



Er ist erstmals 1822 von Duncan beschrieben worden (1). Die Retraktion setzt spätestens nach erfolgter Gerinnung ein (2) und ist unter normalen Bedingungen 2 - 3 Stunden nach der Gerinnung abgeschlossen (3, 4). Es werden etwa 45 - 55 % des Gerinnselvolumens ausgepresst.

Unsere Kenntnisse über den Mechanismus der Retraktion sind durch die Untersuchungen von Köppel gefördert worden:

Die mit dem unbewaffneten Auge sichtbare Retraktion des Koagulums ist die Folge einer langen Reihe von Reaktionen und Wandlungen von Substrat und Enzymen sowie von Faktoren, die das Fibrin für die Retraktion geeignet machen und die Ausbildung von besonderen Kräften der Retraktion, die durch eine strukturhomologe Lateralassoziation der Fibrinfasern und der Faserbündel im Fibrinfasergerüst zustande kommen, bewirken (5).

Die bekannten, für die Retraktion wesentlichen Faktoren (6) sind im übrigen:

1) Menge der corpusculären Elemente. Ein Zuviel an (vergleichsweise nicht kompressiblen) Erythrocyten wird die Retraktion nicht zu einem Optimum gelangen lassen. Man hat die Erythrocyten deshalb nicht nur als Gerinnungsballast (7), sondern auch als Retraktionsballast (8) bezeichnet.

Bei Polyglobulie wird die Retraktion deshalb gehemmt, bei Anämie verstärkt sein (9, 10, 11). Das Volumen von Leukocyten und Thrombocyten kann hierbei naturgemäß vernachlässigt werden.

2) Qualität und Quantität des Fibrinogens.
Von einer Vermehrung des Fibrinogens über eine optimale Konzentration hinaus wird die Retraktion beeinträchtigt bis verhindert (12, 13).

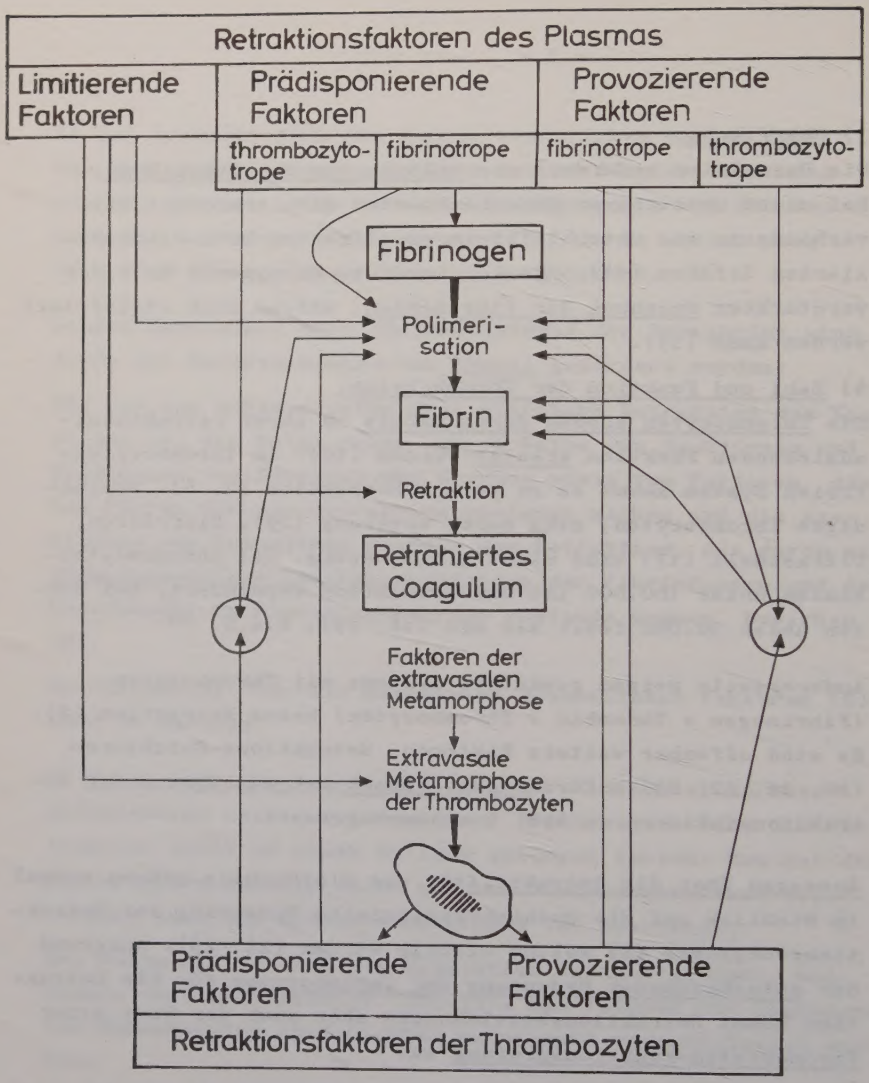
3) Oberfläche.
Die Retraktion erfordert ein Ablösen von der Oberfläche. Bei nicht benetzbarer Oberfläche wird dies erschwert bzw. verhindert: sie unterbleibt in paraffierten bzw. silikonisierten Gefäßen (14). Hierbei kommt es naturgemäß zu einer verstärkten Spannung der Fibrinfäden, welche auch registriert werden kann (15).

4) Zahl und Funktion der Thrombocyten.
Die Thrombocyten können durch nichts in ihrer retraktionsauslösenden Funktion ersetzt werden (10): Im thrombocytenfreien System kommt es zu keiner Retraktion (2, 6). Geschädigte Thrombocyten, etwa durch Lagerung (16), Einfrieren, Ultraschall (17) sind nicht gleichwertig. Bei Thrombocytenzahlen unter 100.000 ist die Retraktion vermindert, bei Werten unter 30.000 fehlt sie oft (18, 19). S.a.S. 26.

Andererseits zeigen gereinigte Systeme mit Thrombocyten (Fibrinogen + Thrombin + Thrombocyten) keine Retraktion (2). Es sind offenbar weitere Faktoren, Retraktions-Cofaktoren (20, 21, 22, 23) erforderlich. Köppel hat das System der Retraktionsfaktoren in Abb. 2 zusammengefasst.

Aussagen über die Retraktilität des Blutkuchens können einmal im Hinblick auf die pathophysiologische Bedeutung des Retraktionsvorganges als solche wichtig werden (24, 25). Aufgrund der entscheidenden Bedeutung der Thrombocyten für die Retraktion kommt Retraktionsbestimmungen aber auch der Wert einer Thrombocyten-Funktionsprüfung zu.

Die Interpretation der mit den verschiedenen Bestimmungen erhaltenen Werte erfordert die Kenntnis und Berücksichtigung der Faktoren, die den Retraktionsvorgang beeinflussen. Nach dem oben Gesagten müssen folgende Faktoren berücksichtigt werden:



1) Thrombocytenzahl
2) Anteil der corpusculären Elemente, d.h. Hämatokrit
3) Fibrinogen-Konzentration
4) Benetzbarkeit der Wand
   vor allem aber
5) alle Faktoren, die den Ablauf des Gerinnungsvorganges (insbesondere Ca-Konzentrationen, pH, Ionenstärke, Temperatur) beeinträchtigen können.

Die auch heute noch in Betracht kommenden Methoden zur Retraktionsbestimmung lassen sich in drei Gruppen einteilen (2, 6, 26, 27):

1) Messung volumetrischer Größen - entweder Volumen des Gerinnsels nach der Serumauspressung oder das Volumen des ausgepressten Serums (28, 29);
2) Messung der Retraktionszeit, d.h. der bis zum Eintritt des Retraktionsvorganges vergehenden Zeit (30);
3) Messung der Retraktionskraft (31, 32).

Die Retraktion kann gemessen werden
1) im Nativblut
2) im Kapillarblut
3) im Zitratblut nach Rekalzifizierung
4) im Zitratplasma nach Rekalzifizierung
5) im Zitratplasma nach Rekalzifizierung und Zugabe von gerinnungsfördernden Substanzen.

Alle Methoden haben Vor- und Nachteile (s. hierzu z.B. 6, 26).

Wenn man das durch Retraktion freigewordene Serum abgießt und sein Volumen bestimmt, so kommt man zu sehr unterschiedlichen Werten, je nachdem ob sich das Coagulum gut oder schlecht von der Glaswand abgelöst hat. So ist bei Wandhaftung die gemessene Serummenge kleiner als es dem reelen Retraktionsvermögen des untersuchten Blutes entspricht. Wenn man die bestehenden Adhäsionen mit einer der Glaswand entlanggeführten Nadel löst, so läuft man Gefahr, durch mechanischen Druck Serum auszupressen und dadurch das Ergebnis zu beeinträchtigen. Dazu genügen bereits sehr geringe Kräfte. Solche und ähnliche mechanische Einflüsse, die schon von sich aus eine Serumabgabe bewirken, müssen unbedingt ausgeschaltet werden, wenn man eine genaue quantitatige Bestimmung der Retraktion vornehmen will. Schwierigkeiten, die sich aus der

notwendigen Berücksichtigung der Blutzellen ergeben, lassen sich leicht umgehen, wenn man statt Vollblut Zitratplasma verwendet.

Störende Einflüsse auf die Retraktion, die sich durch Störungen des Gerinnungsvorganges ergeben könnten, lassen sich eliminieren durch Zugabe von gerinnungsfördernden Substanzen, insbesondere Thromboplastin oder Thrombin.

Ebenso haben Methoden, bei denen das Blut(gerinnsel) nicht mehr mit einer festen (starren) Wand in Berührung kommt, Vorteile. Hierzu gehört die von Hirschboeck 1948 angegebene Methode zur Bestimmung der Retraktionszeit.

Problemstellung: Mir war die Aufgabe gestellt worden, im Rahmen von Reihenversuchen zu prüfen, wie sich bestimmte methodische Abwandlungen bzw. Faktoren auf die Bestimmung der Retraktionszeit nach Hirschboeck (20) in der von Matis und Gross modifizierten Form (8, 33) auswirken.

Bei dieser Bestimmung werden mit einer "Sahli-Haemometer-Pipette" aus der Fingerbeere 20 cmm Kapillarblut entnommen und unter vorsichtigem Ausblasen auf die Oberfläche von Rizinusöl aufgesetzt, das für diesen Zweck in kleine Röhrchen - etwa 1 cm Durchmesser - abgefüllt wird (Abb. 3a). Dieser Bluttropfen bleibt mit seinem oberen Teil in kugeliger Form an der Oberfläche des Öls haften. Hierauf kann nach einiger Zeit mit völlig ausreichender Genauigkeit die Auspressung eines größer werdenden Serumtröpfchens beobachtet werden. Man stellt die Zeit vom Einstich in die Fingerbeere bis zum Auftreten des kleinen Serumtröpfchens fest. Es sind jeweils zwei Röhrchen in der angegebenen Form zu beschicken;

a

b. 3 a

bei einwandfreier Technik muß in beiden Röhrchen die Retraktion annähernd gleichzeitig beginnen. Verwendet wird der Mittelwert.

Es hat sich gezeigt, daß hin und wieder Tropfen aus unerklärbaren Gründen sinken, daß bei manchen Tropfen die Retraktion nicht eintritt, daß die Werte bei den Doppelbestimmungen verschiedentlich stark voneinander abweichen.

Bei meinen Untersuchungen sollte der Einfluß von Temperatur, Blutmenge (Tropfengröße) sowie die Auswirkung wiederholter Verwendung der gleichen Pipette geprüft werden.

II. Eigene Untersuchungen

1. Versuchsanordnung

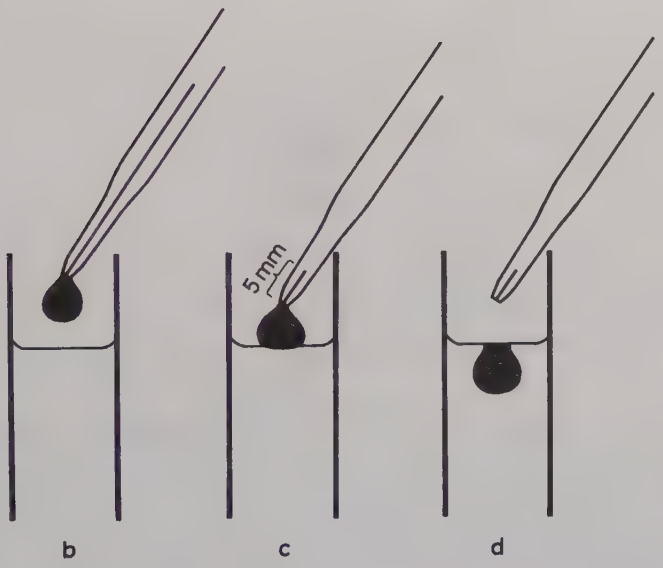
Nach der oben angegebenen Methode durchzuführende Reihenversuche bei einer Person setzen die Verwendung von Venenblut im silikonisierten System voraus; die Gerinnung sorgfältig entnommenen Venenblutes tritt unter diesen Umständen frühestens nach 15 - 20 Min. ein, so daß genügend Zeit für die Suspension zahlreicher Tropfen im Rahmen eines Untersuchungsganges (es waren jeweils 7 - 9 Min. erforderlich) bleibt.

Vorgehen im einzelnen: Mindestens eine Stunde vor Versuchsbeginn wurden die mit Rizinusöl gefüllten Röhrchen in das Wasserbad gestellt. dessen Temperatur durch einen Thermostaten konstant gehalten wurde. Auf diese Weise hat das Öl in den Röhrchen bei Versuchsbeginn die Temperatur des Wasserbades angenommen. In der Zwischenzeit wird das für den Versuch benötigte Material zurecht gelegt:

1) Hb-Pipetten, die vorher sorgfältig mit Aqua dest., Alkohol und Äther gereinigt worden waren,
2) ein Mundschlauch,
3) silikonisiertes Uhrglas,
4) silikonisierte Rekordspritze mit silikonisierter Kanüle,
5) Stoppuhr,
6) Tupfer.

Bei Punktion der Armvene wird die Zeit gestoppt. Der Inhalt der Rekordspritze wird nach Abnahme der Kanüle ohne Druck auf das silikonisierte Uhrgläschen entleert. Sodann wurde mit der Hb-Pipette ein Tropfen nach dem anderen in die mit 1 - 20 bezeichneten Röhrchen eingebracht.

Die Pipettenspitze wird von überschüssigem Blut befreit, und das Blut dann solange vorsichtig ausgeblasen, bis nur noch etwa 5 mm Blutfaden in der Pipette enthalten sind. Zu diesem Zeitpunkt hat sich ein Tropfen am Ende der Pipette ausgebildet, der - noch an der Pipette haftend - auf die Oberfläche des Öls aufgesetzt wird (Abb. 3 b,c,d).



Er löst sich hierbei von der Pipette und bleibt in kugeliger Form mit seinem oberen Anteil an der Oberfläche hängen. Anschließend werden die Röhrchen mit einem Korken verschlossen. Dies ist zwar nicht erforderlich, jedoch kann auf diese Weise das Röhrchen besser gehandhabt werden.

Die Tropfen wurden sofort sorgfältig beobachtet. Hierbei wurde das Röhrchen aus dem Wasserbad entnommen und zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand gehalten, gleichzeitig mit Daumen und Zeigefinger der rechten Hand gedreht, so daß der Tropfen von allen Seiten beobachtet werden konnte (Abb. 4). Auf diese Weise können alle Veränderungen der Tropfenkontur gut beobachtet werden.

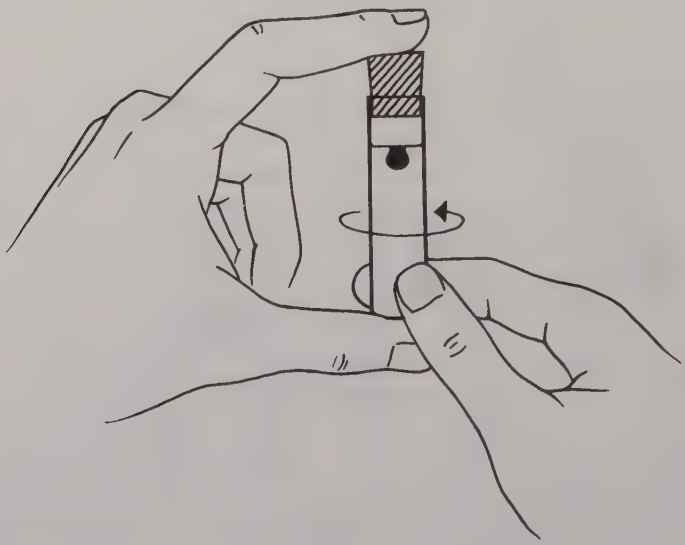


Abb. 4

Die vorübergehend kurze Entnahme des Glases aus dem Wasserbad (10 - 15 Sec.) ist für die Öltemperatur ohne Bedeutung.

Die Versuche wurden im Hinblick auf die tagesperiodischen Schwankungen der Thrombocytenzahl immer zur gleichen Tageszeit durchgeführt.

2. Ergebnisse

Die nachstehend mitgeteilten Ergebnisse basieren auf Beobachtungen während insgesamt 103 Versuchen, von denen 78, entsprechend 1560 Einzelbestimmungen, ausgewertet werden konnten.

a) Allgemeine Beobachtungen

Das Rizinusöl muß ganz sauber sein. In der ersten Zeit meiner Untersuchungen wurden nach Abschluß eines Versuches jeweils die Tropfen abgegossen. Damit war das Gläschen für den nächsten Versuch gebrauchsfertig; nach wiederholtem Abgiessen muß dann entsprechend Rizinusöl aufgefüllt werden.

Es fiel auf, daß -obgleich richtig eingebracht - umsomehr Tropfen sanken, je häufiger das gleiche Öl benutzt wurde. Offenbar wird das Öl allein nach längerem Gebrauch in einer für die Oberflächenspannung bedeutsamen Weise - ohne daß diese mit sichtbaren Veränderungen einherzugehen braucht - verändert.

Manchmal waren an der Oberfläche auch sichtbare Veränderungen, z.B. durch Zellstofflusen, Staub, Blutreste, zu sehen. Brachte man einen Bluttropfen in diese Röhrchen, so war eine besonders kurze Retraktionszeit zu beobachten, da das Schmutzteilchen sich an den Tropfen legte und an dieser Stelle, offenbar als (zusätzliches) "Retraktionszentrum" wirkend, den Serumaustritt beschleunigte. Genau das gleiche gilt für Luftblasen an der Oberfläche des Öls.

Feuchtigkeit an der Oberfläche (z.B. bei Kondenswasser, das - von der Wand des Röhrchens fliessend - sich auf der Oberfläche sammelte) führte zu regelmässigem Zerfliessen des Tropfens an der Oberfläche und dessen Absinken.

Die Bedeutung einer sorgfältigen Venenpunktion ergibt sich aus der bei unsachgemäßer Blutentnahme unkontrollierbaren Beimischung von Gewebefaktoren der Thrombokinasebildung. So gerinnt nach der 3. - 4. Punktion das Blut im Uhrglasschälchen so schnell, daß bei dem geschilderten Vorgehen nicht mehr alle Röhrchen beschickt werden können. Tropfen, die noch in die Röhrchen eingebracht werden konnten, wiesen eine stark verkürzte Retraktionszeit auf.

Ebenso wichtig ist das Pipettieren: Das Blut darf beim Aufziehen in der Pipette nicht lange hin- und herbewegt werden. Vermehrter Kontakt mit der (rauhen) Pipettenwand führt verständlicherweise zu einer Beschleunigung (Kontaktaktivierung) der Gerinnung und damit der Retraktion.

Besonders wichtig ist das Vermeiden von Luftblasen im Bluttropfen. Sie können das Sinken des Tropfens bewirken, indem sie, nach oben steigend, die Haftfläche des Bluttropfens verkleinern oder, zum Rand wandernd, an der Grenzfläche Blut - Öl nur schwer von kleinsten Serumtröpfchen einer beginnenden Retraktion zu unterscheiden und als Fremdkörper (s.o.) wirksam sind.

Bei Überführung des Tropfens aus der Pipette auf die Öloberfläche kann es zu Störungen kommen.

Wenn man das Blut zu kräftig ausbläst, löst sich der Tropfen von der Pipette, fällt auf die Öloberfläche und sinkt in den meisten Fällen. Falls der Tropfen jedoch an der Pipette hängenbleibt, wird er zunächst "aufgeblasen". Wenn man diese Tropfen dann auf das Öl aufsetzt, so kann die Luftblase im Inneren des Tropfens zerspringen. Der Tropfen unterscheidet sich äußerlich zunächst nicht notwendigerweise von den anderen, später kommt es jedoch zu einer Verformung, die nicht

Folge beginnender Retraktion ist, also ohne Serumauspressung zu diesem Zeitpunkt. Beim Platzen der Luftblase können von einem großen Tropfen einige kleine Blutbläschen abgesprengt werden, die sich dann an den Tropfen anlagern. Wenn man dies nicht genau beobachtet, könnte man glauben, daß hier bereits die Retraktion eingetreten sei.

Die Pipetteninhalt muß langsam ausgeblasen und vorsichtig auf die Öloberfläche aufgesetzt werden. Die Pipettenspitze darf hierbei nicht mit dem Öl in Berührung kommen (Abb. 5). In diesem Falle würde der Tropfen sofort oder infolge der Ausbildung eines langen Tropfenhalses sinken.

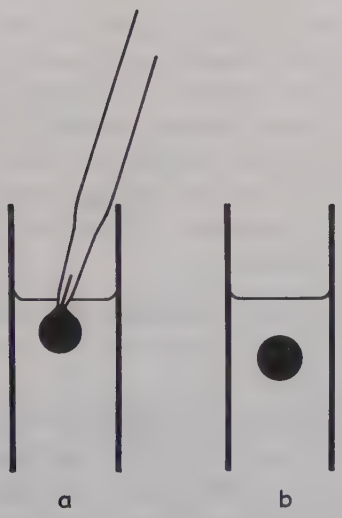


Abb. 5

Aussagen über die Retraktionszeit (s.u.) setzen voraus, daß der Zeitpunkt des Retraktionsbeginns erfasst wird. Dies kann nur durch eine gewisse Übung zuverlässig erlernt werden. Die ausgepressten Serumtröpfchen und damit der Retraktionsbeginn können ohne weiteres als solche identifiziert werden. Man wird eine auf Serumauspressung "verdächtige" Stelle im Auge behalten und nach einigen Minuten entscheiden können, ob es sich tatsächlich um eine Serumauspressung oder einen Artefakt - etwa Luftblasen, Kondensflüssigkeit, abgesprengte Tröpfchenteile - gehandelt hat. Ein Serumtropfen vergrößert sich zunächst bis zu einem bestimmten Volumen, bei einem unverändert klein bleibenden "Serumtröpfchen" handelt es sich mit größter Wahrscheinlichkeit nicht um ein solches.

Man kann manchmal den Retraktionsbeginn von der Auspressung eines zunächst kaum wahrnehmbaren Tropfens verfolgen. Manchmal kommt es aber auch innerhalb weniger Sekunden zu einem Aufschießen eines großen Serumtropfens. In jedem Falle wird man sich den Zeitpunkt des Auftretens eines (vermeintlichen) Serumtröpfchens merken, um den Retraktionsbeginn später korrekt festhalten zu können, wenn man sicher ist, daß es sich um ein Serumtröpfchen gehandelt hat.

In Abbildung 6 a - d sind typische Lokalisationen der Serumtröpfchen und deren Größe einige Minuten nach der Auspressung maßstabgerecht wiedergegeben.

Häufig kann man als erstes Anzeichen einer Retraktion beobachten, daß sich bei unveränderter Tropfenkontur die roten Elemente "zurückziehen" (Abb. 7 a). An dieser Stelle kommt es dann nach einiger Zeit zu einer Vorwölbung und Auspressung von Serum (Abb. 7 b - c).

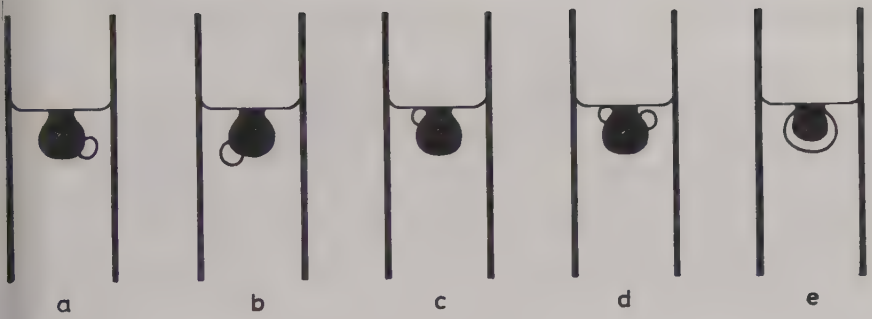


Abb. 6

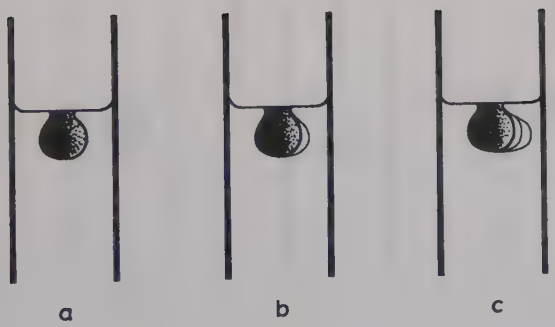
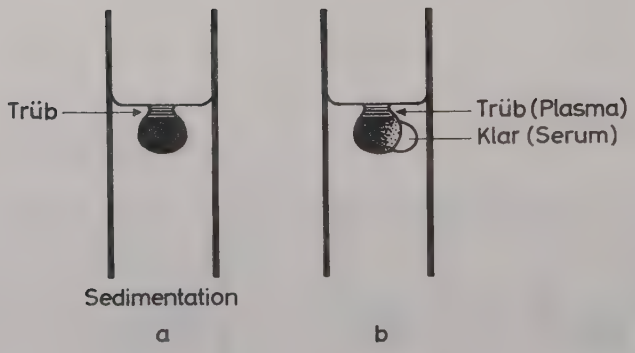


Abb. 7

Innerhalb des Tropfens kann es zu einer Sedimentierung der roten Elemente mit horizontalem Spiegel kommen (Abb. 8 a), wohl als Hinweis auf eine stark erhöhte Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten bzw. einen niedrigen Hämatokritwert.

Auch in diesen Tropfen kommt es zur Retraktion, und zwar entweder im Bereich der corpusculären Elemente oder auch im Bereich des von diesen freien Tropfenhalses. Die nach Eintritt der Sedimentation zellfreie Flüssigkeit ist trüb, im Gegensatz zu dem ausgepressten Serumtropfen (Abb. 8b).



Das Serum braucht nicht kugelig ausgepresst zu werden, es kann den Tropfen auch nach Art einer Schale mehr oder weniger vollständig umgeben (Abb. 6e).

Die Haftfläche des Tropfens an der Oberfläche kann gegenüber der Norm verschmälert oder verbreitert sein.

Wenn sich ein ausgezogener Tropfenhals ausbildet, so ist die Sinkungstendenz des Tropfens in der Regel gesteigert. Er entsteht, abgesehen von fehlerhaftem Aufsetzen des Tropfens, vor allem bei niedrigen Hämatokritwerten bzw. stark erhöhter Erythrocyten-Sedimentierung. Die sich am Boden ansammelnden Erythrocyten "ziehen den Tropfen" gewissermaßen nach unten (Abb. 9b).

Mehr halbkugelförmige Tropfen (Abb. 9c) weisen in der Regel eine verzögerte Retraktionstendenz auf.

Zur Bewertung sollen nur regulär geformte Tropfen (Abb. 9a) gelangen. Entscheidend ist die Auspressung von Serum, eine Verformung der Kontur allein genügt nicht. Wichtig ist eine ständige Beobachtung.

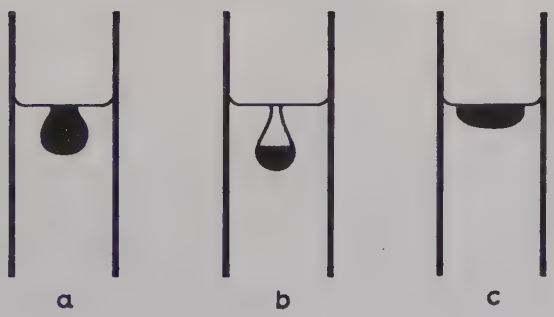


Abb. 9

b) Spezielle Beobachtungen*)
bei 31 Versuchen, entsprechend 620 Einzelbestimmungen

I. Der Einfluß der Temperatur auf die Retraktionszeit wurde in der Weise geprüft, daß mit stets neuer Pipette bei insgesamt 5 Versuchen Röhrchen mit einer Öltemperatur von 30°, 26°, 20° und 18/19° (in dieser Reihenfolge) beschickt wurden. Während eines Versuches konnten für eine Temperatur somit jeweils (max.) 5 Werte ermittelt werden.

Abbildung 10 und 10a sowie die Werte der Tabelle 1 zeigen

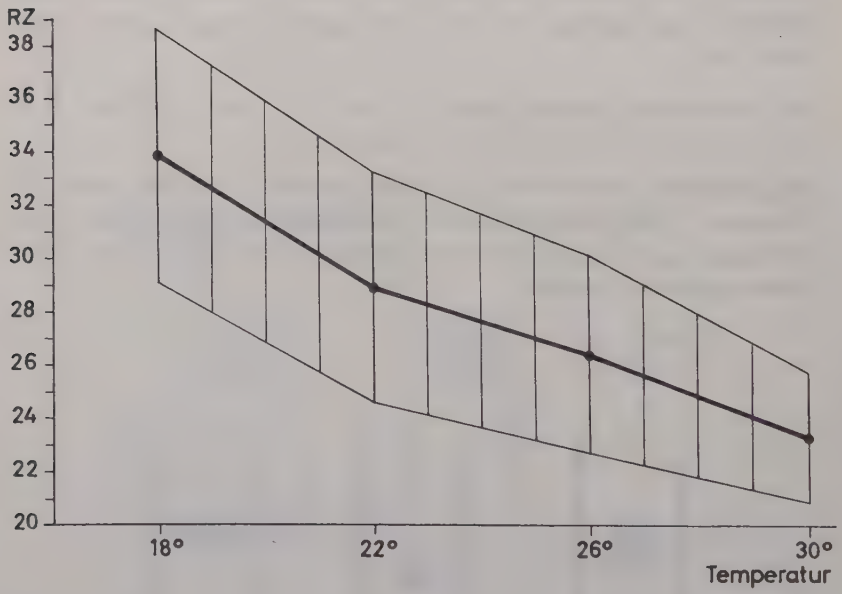


Abb. 10

*) An einem Tag wurden jeweils 1, höchstens 2 Versuche durchgeführt. Unter Versuch ist hier die Beschickung von 20 Gläschen aus einer Blutprobe (s.S. 8) zu verstehen. - Unter Differenz ist die Zeitspanne zwischen erstem Anzeichen für eine Retraktion und sicher möglicher Bewertung des Retraktionseintritts zu verstehen. - Unter Ausfallquote sind nicht bewertbare Bestimmungen zu verstehen: 1) Ausbleiben der Retraktion; 2) Sinken des Tropfens.

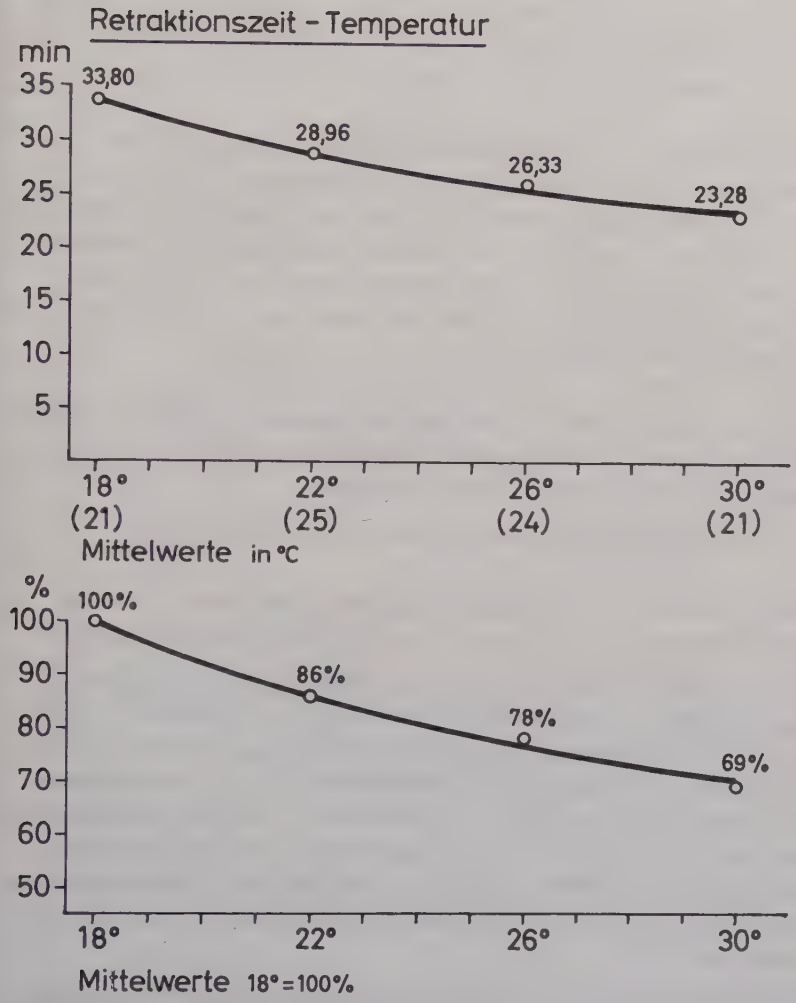

Retraktionszeit - Temperatur
min
35
30
25
20
15
10
5
33,80
28,96
26,33
23,28
18°
(21)
22°
(25)
26°
(24)
30°
(21)
Mittelwerte in °C
%
100
90
80
70
60
50
100%
86%
78%
69%
18°
22°
26°
30°
Mittelwerte 18°=100%

Abb. 10 a

das zu erwartende, indirekt proportionale Verhältnis zwischen Temperatur und Retraktionszeit und die mit abnehmender Retraktionszeit abnehmende Streuung. Die Ausfallquote ist bei den mittleren Temperaturen gering (Tab. 1).

II. Zur Bestimmung des Einflusses der Tropfengröße wurde bei den einzelnen Versuchen alternierend jeweils 10mal die Blutsäule in der Pipette bis 1 cm über der Markierung (20 cmm) und bis 1 cm unterhalb der Markierung aufgezogen. Bei Aufsetzen des Bluttropfens auf die Oberfläche waren ca. 5 mm Blutsäule in der Pipette, so daß Volumina von ca. 16 bzw. 21 cmm verglichen wurden.

Aus Tabelle 2 geht hervor, daß die Retraktion in den kleineren Tropfen früher, jedoch nicht signifikant früher, bei einer Streuung gleicher Größenordnung, eintritt.

Ausfallquote und Differenzwerte sind praktisch gleich.

III. Zur Klärung, ob die wiederholte Benutzung einer Pipette die Retraktionszeit beeinflusst, wurde wie folgt vorgegangen:

Bei 10 Versuchen wurden die Tropfen immer mit der gleichen Pipette entnommen. Die Retraktionszeiten der Tropfen 1 - 5, 6 - 10, 11 - 15 und 16 - 20 aller Versuche wurden zusammengefasst. Die Werte in Tabelle 3 sowie Abbildung 11 (ausgezogene Kurve) zeigen, daß zwischen den einzelnen Gruppen, insbesondere zwischen den 5 ersten und 5 letzten Tropfen der 10 Versuche kein Unterschied besteht. Das gilt auch für die Differenzwerte. Die Ausfallquote in den einzelnen Gruppen zeigt keine eindeutige Tendenz.

Bei weiteren 5 Versuchen wurden stets neue Pipetten verwendet, im übrigen analog verfahren. Die Werte der Tabelle 4 und Abbildung 11 (unterbrochene Kurve) zeigen, daß zwischen den einzelnen Gruppen, insbesondere zwischen den 5 ersten und 5 letzten Tropfen der 5 Versuche kein Unterschied besteht. Das gilt auch für die Differenzwerte. Die Ausfallquote in den einzelnen Gruppen zeigt keine eindeutige Tendenz.

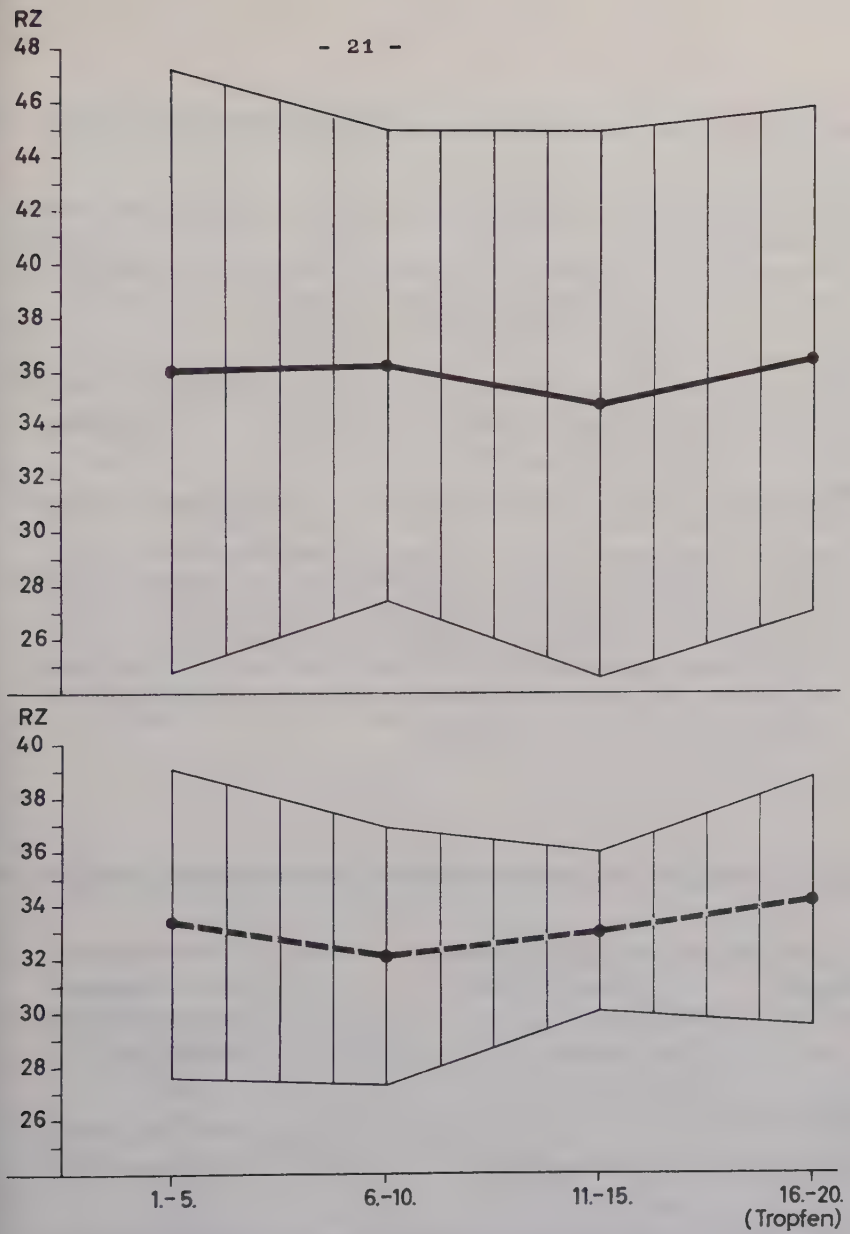


Abb. 11 zeigt, daß die Retraktionszeiten in den ersten 5 und letzten 5 Tropfen etwa gleich sind. Weder die Alterung des Blutes vor Einbringen in das Öl noch die wiederholte Benutzung der Pipette (obere Kurve) wirkt sich aus. Die stärkere Streuung der mit gleicher Pipette ermittelten Werte (obere Kurve) beruht nicht auf diesem Pipettenfaktor, sondern ist durch größere Unterschiede in den Basis-Retraktionszeiten der einzelnen Versuche bedingt.

Tab. 1 * : Einfluß der Temperatur auf die Retraktionszeit (n = 100)

Temperatur:	n = 25 18°	n = 25 22°	n = 25 26°	n = 25 30°
RZ	33,81±4,76	28,96±4,37	26,33±3,66	23,29±2,69
(n)	(21)	(25)	(24)	(21)
nicht bewertbar	4	0	1	4
Differenz:	5,53±3,16	4,88±2,49	5,13±1,07	3,84±1,91
(n)	(13)	(25)	(15)	(13)
keine Diff.	8	0	9	8

* Unter 'Differenz' ist die Anzahl der Beobachtungen angeführt, bei denen sichere Anzeichen für eine bevorstehende Retraktion festgestellt werden konnten. Des weiteren ist die zeitliche Differenz vom Auftreten dieses ersten Anzeichens bis zur sicher bewertbaren Retraktion angegeben. Unter 'keine Differenz' findet sich die Anzahl jener Beobachtungen, bei denen die Serumauspressung verhältnismäßig schnell, ohne Anzeichen für die bevorstehende Retraktion auftrat. Zeitangabe in Minuten.

Tab. 2 : Einfluß der Tropfengröße auf die Retraktionszeit (n=220)

Grösse:	kleine Tropfen n = 110	grosse Tropfen n = 110
RZ	26,69±301	27,85±3,08
(n)	(86)	(85)
nicht bewertb.	24	25
Differenz:	6,02±2,26	6,26±2,21
(n)	(71)	(60)
keine Diff.	15	25

Tab.3 : Retraktionszeit bei Verwendung nur einer Pipette/Versuch (n 3 200)

Tropfen Reihenfolge	n = 50 1 - 5	n = 50 6 - 10	n = 50 11 - 15	n = 50 16 - 20
RZ	36,03±11,72	36,32±8,82	34,94±10,11	36,69±9,45
(n)	(31)	(38)	(34)	(39)
nicht bewertbar	19	12	16	11
Differenz:	5,55±2,65	5,27±2,22	5,81±2,51	6,0 ±2,89
(n)	(22)	(26)	(26)	(33)
keine Differenz	9	12	8	6

Tab.4 : Retraktionszeit bei nur einmaliger Verwendung einer Pipette (n = 100)

Tropfen Reihenfolge	n = 25 1 - 5	n = 25 6 - 10	n = 25 11 - 15	n = 25 16 - 20
RZ	33,31±5,80	32,06±4,8	33,3±2,99	34,11±4,70
(n)	(16)	(18)	(20)	(17)
nicht bewertb.	9	7	5	8
Differenz:	5,5±2,09	5,17±3,57	6,05±9,95	5,75±3,3
(n)	(12)	(18)	(20)	(16)
keine Differenz	4	0	0	1

IV. Die Mittelwerte der Bestimmungen einer weiteren Serie von 13 Versuchen zeigen, daß bei Verwendung immer neuer Pipetten die Retraktionszeit etwas länger (26,07±3,96) ist als bei Verwendung ein und derselben Pipette (23,47±2,37). Diese Differenz ist nicht signifikant, deutet jedoch die an sich zu erwartende Tendenz an.

V. Nicht verwertbare Bestimmungen beruhen auf einem Ausbleiben der Retraktion oder Sinken des Tropfens. Der Anteil dieser Bestimmungen betrug im Rahmen meiner Untersuchungen 16,4 % (= 256 von 1560 Einzelbestimmungen).

Die sogenannten stummen Tropfen zeigen keine Retraktion. Die Ursache hierfür ist bei normaler Thrombocytenzahl bzw. -funktion und normalen Gerinnungsverhältnissen nicht bekannt und auch durch meine Untersuchungen nicht zu klären.

Das Sinken der Tropfen wird durch bestimmte Faktoren (s.auch S. 11) gefördert. So zeigte sich, daß bei höheren Öltemperaturen mehr Tropfen sinken als bei niedrigeren. Bei Verwendung einer Pipette für 10 Einzelbestimmungen ist der Prozentsatz der sinkenden Tropfen höher als bei nur einmaliger Verwendung einer Pipette. *)

Große Tropfen sinken leichter als kleine; dies kommt vor allem bei höheren Temperaturen (30°, 37°) zur Beobachtung.

In den Tabellen 1 - 4 kommen diese Unterschiede nicht zum Ausdruck, weil im Hinblick auf die kleinere Zahl zwischen stummen Tropfen und absinkenden Tropfen nicht differenziert wurde.

---

*) Diese Unterschiede sind im übrigen nicht zu sichern.

VI. Die statistische Auswertung

Innerhalb der einzelnen Gruppen wurde der Mittelwert ($\bar{x}$) und die Varianz (s^2) nach folgenden Formeln berechnet:

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{n} \qquad s^2 = \frac{\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2/n}{n - 1}$$

In den meisten Fällen lagen - wie aus den Tabellen 1 - 4 ohne weiteres ersichtlich - die Mittelwerte so dicht beieinander, daß von vornherein auf einen statistischen Vergleich der Mittelwerte verzichtet werden konnte. Nur in einzelnen Fällen erschien die Anwendung des t-Testes zum Vergleich zweier Mittelwerte sinnvoll, so z.B. hinsichtlich der für 18° und 30° bzw. 18° und 26° ermittelten Werte.

Hinsichtlich der"Differenzwerte" (s. Legende zu Tabelle 1) sowie der "nicht bewertbaren" Beobachtungen ergaben sich keine statistisch zu sichernden Unterschiede.

3. Diskussion der Ergebnisse

Meine Untersuchungen haben ergeben, daß die einfache Methode der Retraktionszeitbestimmung einfach zu erlernen ist. Dennoch erfordert das Ablesen der Retraktionszeit Erfahrung und Übung (Durchführung von mindestens 250 Bestimmungen).

Die bei den hier vorgelegten Untersuchungen angewandte Bestimmung der Retraktionszeit ist als subglobale Methode eingestuft worden (6). In sie gehen praktisch alle die Retraktion beeinflussenden Faktoren ein. Hierin kann unter bestimmten Aspekten sogar ein Vorteil gesehen werden, zumal die wesentlichen, die Retraktionszeit beeinflussenden Faktoren in der Regel gut überschaubar sind. Abbildung 12 zeigt, daß die Retraktion, gemessen mit der Retraktionszeit, bei erniedrigten Thrombocytenzahlen eine Funktion der Thrombocytenzahl ist. Die Retraktionszeit erscheint vor allem auch zur Ermittlung einer etwa besonders frühzeitigen und kräftigen Retraktion geeignet, wie man sie bei erhöhten Thrombocytenzahlen erwarten könnte (35). Die meist üblichen Verfahren, die Menge des ausgepreßten Serums, oder die Größe des retrahierten Gerinnsels nach Beendigung des Vorganges zu messen, sind zum Nachweis einer derartigen Retraktion weniger geeignet, da schon normalerweise eine nahezu vollständige Serumauspressung erfolgt. Der Retraktionszeit kommt zumindest die gleiche Wertigkeit zu wie der Bestimmung der Vollblutgerinnungszeit, die trotz aller Verfeinerung der Gerinnungsanalysen unter einer gewissen Akzentverschiebung ihre Bedeutung behalten hat.

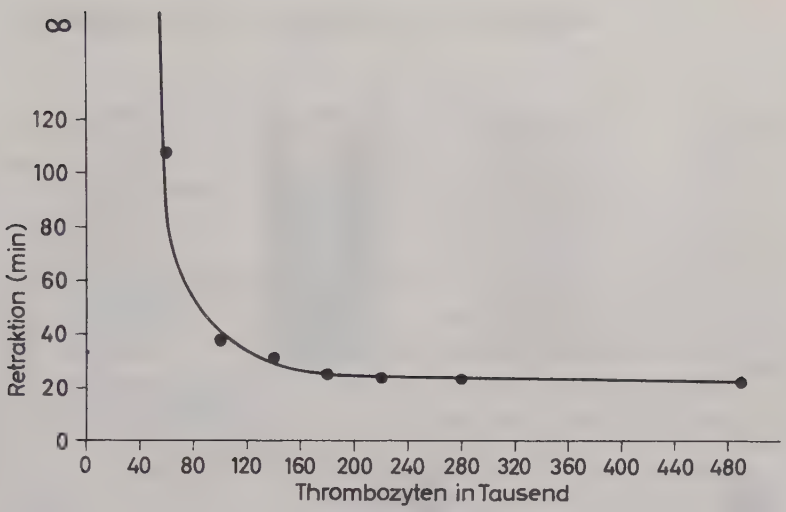


Abb. 12

Die Tatsache, daß in die Retraktionszeit die Gerinnungszeit eingeht (Abb. 13), erfordert zur richtigen Interpretation vor allem eine simultan (!) vorzunehmende, ergänzende Bestimmung der Gerinnungszeit im gleichen System. Bei Bestimmung der Retraktionszeit im Venenblut ist die Bestimmung der Gerinnungszeit im Venenblut vorzunehmen.

Die Vollblutgerinnungszeit nach Lee-White kann ohne weiteres durch eine Bestimmung der Retraktionszeit im Venenblut ergänzt werden, indem ein Teil des hierbei entnommenen Blutes für die Retraktionszeit verwendet wird.

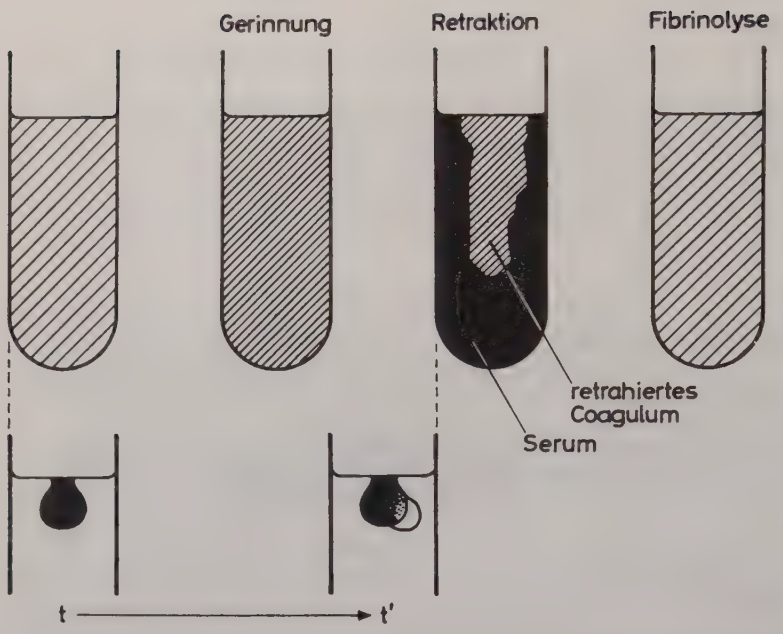


Abb. 13

Der analogen Kombination Kapillarblutgerinnungszeit - Retraktionszeit im Kapillarblut haftet der Nachteil einer gewissen Unzuverlässigkeit von Gerinnungszeitbestimmungen im Kapillarblut an. Ebenso sind die wünschenswerten Mehrfach-Bestimmungen der Retraktionszeit im Venenblut unbedenklicher als im Kapillarblut. Das unterschiedliche Verhalten der Retraktionszeit im Kapillarblut und Venenblut - nicht Gegenstand unserer Untersuchungen - ist durch frühere Arbeiten deutlich gemacht worden.

So fanden Matis und Gross folgende Werte:

Retraktionszeit mit Blut aus der
Fingerbeere 27,9 ± 0,5 Min.
Kubitalvene 35,1 ± 0,9 Min.

Gerinnungszeit mit Blut aus der
Fingerbeere 209 ± 8 Sek.
Kubitalvene 246 ± 9 Sek.

Die Leistungsfähigkeit der Methode zeigt sich besonders bei wiederholt vorgenommenen "Längsschnitt"-Untersuchungen. So liessen sich die tagesperiodischen Schwankungen der Thrombocytenzahl auch durch ein entsprechendes (gegensinniges) Verhalten der Retraktionszeit (Abb. 14) nachweisen (34),

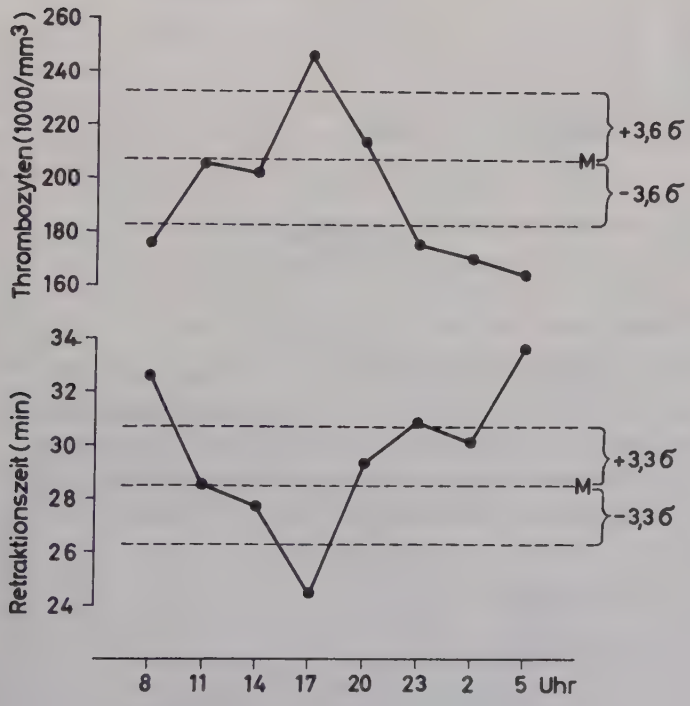


Abb. 14

ebenso das Ansprechen der Retraktionszeit auf eine Milzexstirpation (Abb. 15) vor Veränderungen (Ansteigen) der Thrombocytenzahl (35).

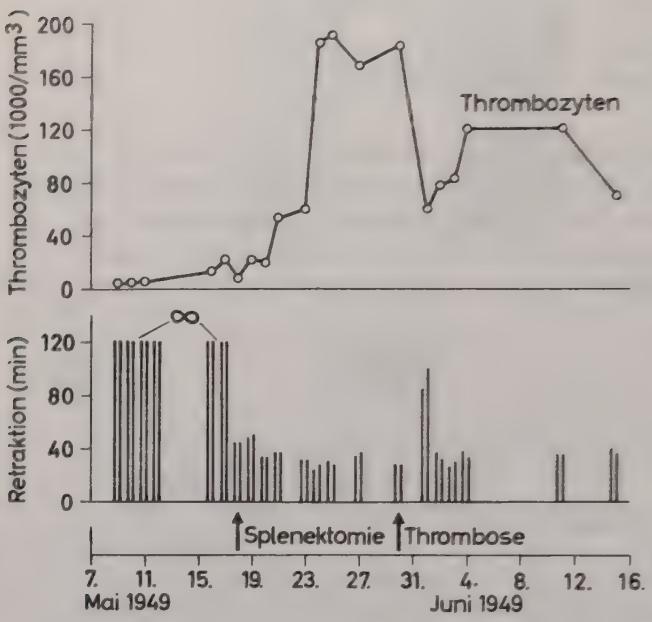


Abb. 15

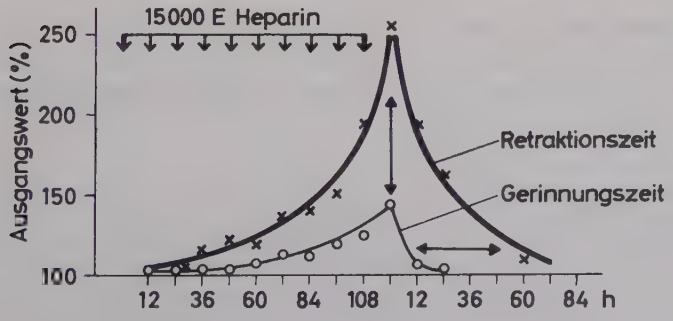
Unsere Untersuchungen unterstreichen die Forderung nach Durchführung der Bestimmung bei einer konstanten Temperatur. Als zweckmäßig erweist sich eine mittlere Temperatur von 25 - 26°. Hierbei lassen sich noch feinere Unterschiede ermitteln, ohne daß die Ausfallquote oder Streubreite zu groß würde.

Die Tropfengröße darf innerhalb eines relativ großen Bereiches, bis zu 20 % schwanken, ohne daß dadurch das Ergebnis beeinflusst wird.

Da bei einem verhältnismässig großen Prozentsatz von Tropfen keine Retraktion eintritt (sog. stumme Tropfen), sollte anstelle der seither empfohlenen Doppelbestimmungen eine Vierfach-Bestimmung vorgenommen werden. Diese ist bei Verwendung von Venenblut etwa nach dem vorstehend geschilderten Vorgehen durchaus möglich, denn: Weder die Alterung des Blutes im Uhrglasschälchen noch die wiederholte Verwendung einer Pipette beeinflussen hier das Ergebnis entscheidend. Dies gilt auch für die bei schnellerem Arbeiten unvermeidliche Schwankung der Tropfengröße.

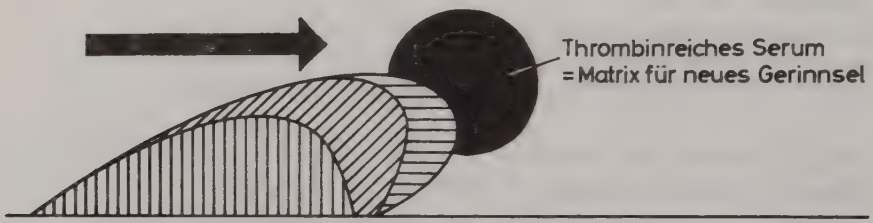
Gegen Vierfach-Bestimmungen der Retraktionszeit unter Verwendung von Kapillarblut könnten, ebenso wie gegen die Bestimmung der Gerinnungszeit im Kapillarblut, im Hinblick auf eine unkontrollierbare Gewebesaft-(Thrombokinase-)Beimengung Bedenken erhoben werden.

Von besonderem Nutzen scheint die Bestimmung der Retraktionszeit zur Kontrolle der Heparin(oid)-Therapie zu sein (36). Auch wenn die in diesem Zusammenhang empfohlene Thrombinzeit oder Gerinnungszeit keinen Heparineffekt mehr vermuten lässt, ist die Retraktionszeit noch verlängert (Abb. 16):



Sie ist ein zur Ermittlung der Dosierungserfordernisse wichtiger Indikator für einen Kumulationseffekt der Heparine (37).

Nach den von Quick entwickelten Beobachtungen (25) könnte die Retraktion für das Thrombenwachstum bedeutsam sein (Abb. 17):



Eine routinemässige Bestimmung der Retraktionszeit scheint u.E. empfehlenswert.

III. Zusammenfassung

Einleitend werden die für die Retraktion wesentlichen Faktoren sowie die Prinzipien der Retraktionsbestimmungen besprochen.

Zur Erfassung des Retraktionsbeginns eignet sich die Bestimmung der Retraktionszeit nach Hirschboeck. Sie ist bei niedrigen Thrombocytenzahlen eine Funktion dieser Thrombocytenzahl und zur Ermittlung einer früh einsetzenden und kräftigen Retraktion, wie sie bei erhöhten Thrombocytenzahlen erwartet werden konnte, geeignet.

In die Retraktionszeit geht die Gerinnungszeit ein. Die Interpretation der Retraktionszeit erfordert deshalb die gleichzeitige Bestimmung der Gerinnungszeit im selben Syst

Da die Bestimmung der Gerinnungszeit aus dem Kapillarblut im Hinblick auf eine unkontrollierbare Beimengung von sog. Gewebe-Thrombokinase, vor allem bei Mehrfach-Bestimmungen, unzuverlässige Werte ergibt, empfiehlt sich die simultane Bestimmung der Retraktionszeit und Gerinnungszeit im Venenblut.

Die Retraktionszeit wird bei dem beschriebenen Vorgehen nicht beeinflusst, sofern die Beschickung der Röhrchen innerhalb 5 Minuten nach der Blutentnahme erfolgt.

Die wiederholte Benutzung einer Pipette (für dasselbe Blut) bleibt ohne Einfluß auf die Retraktionszeit, desgleichen Schwankungen der Tropfengröße bis zu 20 %.

Temperatur und Retraktion verhalten sich umgekehrt proportional; optimale Ergebnisse sind bei mittleren Temperaturen von 24 - 26° zu erwarten. Der Anteil nicht verwertbarer Bestimmungen liegt zwischen 15 und 20 %. Mögliche Ursachen hierfür werden diskutiert. Anstelle der seither empfohlenen Doppelbestimmungen scheinen deshalb Vierfach-Bestimmungen angebracht, zumal Schwankungen der Tropfengröße und die wiederholte Benutzung einer Pipette auf die Retraktionszeit ohne Einfluß sind.

IV. Literatur

1) Duncan, A.: Edinbgh.med.Surgery J. 18:405 (1922)

2) Deutsch, E.: Gerinnungsphysiologie. In: 38), S. 73

3) Benthaus, J.: Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 63:695-698 (1957)

4) Ivic, M.: Münch.med.Wschr. 96:398 (1954)

5) Köppel, G.: Die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin. Thrombos.Diathes.haemorrh.(Stuttg.),Suppl. 6, 1962

6) Jürgens J., u. F.K. Beller: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse. G.Thieme, Stuttgart, 1959, S. 318

7) Fonio, A.: Die Gerinnung des Blutes. In:Handbuch der normalen u.pathol.Physiologie, Bd. VI/1, Berlin 1938

8) Matis, P.: Dtsch.med.Wschr. 74:618 (1949)

9) Aggeler, P.M., S.P.Lucia, L.M. Hamlin: J.Lab.clin.Med. 28:89 (1942/43)

10) Budtz-Olsen, O.E.: Clot Retraction. Blackwell, Oxford,1951 S.35

11) Gross, R., P.Matis: Z.klin.Med. 150:13 (1952)

12) Bucher, U.: Praxis 45:405 (1956)

13) Lundsteen, E.: Acta med.scand. 112:302 (1942)

14) Lampert, H.: Die physikalische Seite des Gerinnungsproblems. Leipzig, 1931; - Die Physik der Blutgerinnung. Kolloidzschr. 60:3 (1932)

15) Hartert, H.: Klin.Wschr. 28:78 (1950)

16) Fonio, A.: Ergebn.inn.Med.Kinderheilk.N.F. 4:1 (1953)

17) Rovatti, B.: Sangre Nr. 3 (1950)

18) Budtz-Olsen, O.E.: Clot Retraction. Blackwell, Oxford, 1951 S.46

19) Beller, F.K.: In: 38), S. 404

20) Ballerini, G.W., H. Seegers: Thrombos.Diathes.haemorrh. (Stuttg.) 3:147-164 (1959); - Ellicott, Ch., C.L.Conley: Bull.Johns Hopk.Hosp.88:321 (1951)

21) Hartert, H.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Parhmakol. 222:154 (1954); - Hartert, H., H.G. Lasch, I. Pfisterer: Thrombos.Diathes.haemorrh.(Stuttg. 1:445-458 (1957)

22) Lüscher, E.F.: Experientia (Basel) 12:268 (1956)

23) Lüscher, E.F.: Experientia (Basel) 12:294 (1956)

24) Marx, R.: Hämostaseologie. Habilitationsschrift, München 1953

25) Quick, A.J.: Surgery 91:296 (1951); - Schweiz.med.Wschr. 84:784 (1954)

26) Benthaus, J.: Über die Retraktion des Blutgerinnsels. Thrombos.Diathes.haemorrh.(Stuttg.) 3:311 (1959)

27) Budtz-Olsen, O.E.: Clot Retraction.Blackwell,Oxford,1951

28) MacFarlane, R.G.: Lancet I:1199 (1939); - Jürgens, J.: VI.Congrès Soc.Internat.Hématol.,Copenhagen, 1957; - Fonio, A.: Ergebn.inn.Med. 4:1 (1953)

29) Gleiss, J.: Die Messung der Retraktion des Blutkuchens und ihre Störungen. Z.klin.Med. 150:13(1952); Zahn, F.W.: Die Messung der Retraktion bei der Blutgerinnung. Ann.paediat.(Basel) 163:328 (1944)

30) Hirschboeck, J.S.: J.Labor.a.clin.Med.(Am.) 33:347 (1948)

31) Fonio, A.: Schweiz.med.Wschr. 84:372 (1954)

32) Fonio, A.: Acta haematol. 11:251 (1954)

33) Matis, P. u. R.Gross: Med.Welt 1951:492

34) Matis, P. u. R.Gross: Schweiz.med.Wschr. 81:1043 (1951)

35) Gross, R.,u.P. Matis: Z.klin.Med. 150:13 (1952)

36) Matis, P., K.Bauer, Ch.Rockstroh: N.Med.Welt 1950:1520

37) Matis, P.: IN: Thrombose und Embolie. P. Schwabe & Co., Basel, 1954, S. 853

38) Naegeli, Th., P.Matis, R.Gross, H.Runge,HW.Sachs: Die thromboembolischen Erkrankungen, 2.Aufl., Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1955

L e b e n s l a u f

Ich, Christa R i e c k e r t geb. Bleißner, wurde am 3.12.1937 als Tochter des verstorbenen Fabrikanten Horst Bleißner und seiner Frau Dr.med.Ilse geb. Schippers in Neudamm Kreis Königsberg geboren. Im Herbst 1943 kam ich in die dortige Volksschule. Seit Ostern 1947 besuchte ich das neusprachliche Mädchengymnasium in Pützchen bei Beuel. Im März 1958 legte ich an dem neusprachlichen Mädchengymnasium Münster-St.Mauritz die Reifeprüfung ab. In den vorklinischen Semestern studierte ich in Tübingen und machte dort im April 1959 das Vorphysikum und im Oktober 1960 das Physikum. In den klinischen Semestern studierte ich an den Universitäten in Kiel und in Tübingen. Im Juni 1964 legte ich an der Universität Tübingen das Staatsexamen ab. Seit Mai 1963 bin ich mit Herrn Dr.med.Hans Rieckert verheiratet.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. P. Matis für die im Einvernehmen mit Herrn Hofrat Professor Dick erfolgte Überlassung des Themas und Hinweise bei der Abfassung der Arbeit zu danken.